

For more records, click the Records link at page end.

To change the format of selected records, select format and click Display Selected.

To print/save clean copies of selected records from browser click Print/Save Selected.

To have records sent as hardcopy or via email, click Send Results.

<input checked="" type="checkbox"/> Select All	<input type="checkbox"/> Clear Selections	<input type="button" value="Print/Save Selected"/>	<input type="button" value="Send Results"/>	<input type="button" value="Display Selected"/>	Format Free
--	---	--	---	---	----------------

1. ☐ 1/5/1 DIALOG(R)File 352:Derwent WPI (c) 2003 Thomson Derwent. All rts. reserv.

007211741

WPI Acc No: 1987-208750/198730

XRAM Acc No: C87-087449

Prepn. of enzyme compsn. with ester exchange activity -
involves drying hydrated substance while in contact with fatty acid
deriv.

Patent Assignee: FUJI OIL CO LTD (FUKU)

Inventor: EBIHARA Y; MATSUO T; SAWAMURA N; TSUMURA K

Number of Countries: 006 Number of Patents: 006

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Week
JP 62134090	A	19870617	JP 85275805	A	19851207	198730 B
EP 294520	A	19881214	EP 87305053	A	19870608	198850 N
US 4873194	A	19891010	US 8756409	A	19870529	198950 N
EP 294520	B1	19930317	EP 87305053	A	19870608	199311 N
DE 3784923	G	19930422	DE 3784923	A	19870608	199317 N
			EP 87305053	A	19870608	

JP 94006058 B2 19940126 JP 85275805 A 19851207 199407

Priority Applications (No Type Date): JP 85275805 A 19851207; DE 3784923 A
19870608; EP 87305053 A 19870608; US 8756409 A 19870529

Cited Patents: 4. Jnl. Ref: FR 2220538; JP 50121485; JP 56127087; JP 60160884
; JP 62134090; JP 75121485

Patent Details:

Patent No	Kind	Lan	Pg	Main IPC	Filing Notes
JP 62134090	A		4		
EP 294520	A	E			

Designated States (Regional): DE FR GB NL

US 4873194 A 4

EP 294520 B1 E 7 C12N-009/20

Designated States (Regional): DE FR GB NL

DE 3784923 G C12N-009/20 Based on patent EP 294520

JP 94006058 B2 C12N-011/00 Based on patent JP 62134090

Abstract (Basic): JP 62134090 A

Fatty acid derivative used is fatty acid, its lower alcohol ester, surfactant and triglyceride, but it is desirable to use water soluble fatty acid deriv. or the fatty acid deriv. which is liquid at normal temp. to contacting it with enzyme compsn. easily and uniformly.

Practically the ester obtd. from monohydric lower alcohol and below 12C satd. fatty acid or below 22C unsatd. fatty acid, can be used favourably. Fatty acid deriv. is used 0.02-10 w/w% (dry basis) on enzyme or enzyme compsn..

It is assumed that fatty acid deriv. acts on a part of enzyme and serves to keep the cubic arrangement of enzyme or enzyme compsn. by drying favourable for ester-exchange. It is important to dry hydrated substance at first slowly and the enzyme compsn. is dried to moisture content below 10% to below 5%.

USE/ADVANTAGE - The enzyme compsn., water-exchange activity rises remarkably, shortened reaction time and/or decreased the amt. of enzyme used.

Title Terms: PREPARATION; ENZYME; COMPOSITION; ESTER; EXCHANGE; ACTIVE; DRY
; HYDRATED; SUBSTANCE; CONTACT; FATTY; ACID; DERIVATIVE

Derwent Class: D16; E17

International Patent Class (Main): C12N-009/20

International Patent Class (Additional): C12N-009/96; C12N-011/14;
C12P-007/64; C12P-009/64
File Segment: CPI

Derwent WPI (Dialog® File 352): (c) 2003 Thomson Derwent. All rights reserved.

✓ Select All	Print/Save Selected	Send Results	Display Selected	Format
✗ Clear Selections				Free ▼

© 2003 The Dialog Corporation

⑯ 日本国特許庁(JP)

⑰ 特許出願公開

⑱ 公開特許公報(A)

昭62-134090

① Int.Cl.⁴

識別記号

庁内整理番号

④ 公開 昭和62年(1987)6月17日

C 12 N 11/14

7823-4B

審査請求 未請求 発明の数 1 (全4頁)

⑤ 発明の名称 酵素剤の製造法

⑥ 特 願 昭60-275805

⑦ 出 願 昭60(1985)12月7日

⑧ 発 明 者	澤 村	紀 夫	橋本市中道226
⑨ 発 明 者	松 尾	高 明	泉南市信達岡中973-34
⑩ 発 明 者	津 村	和 伸	堺市鳳中町5-166
⑪ 発 明 者	海 老 原	善 隆	八尾市本町5-1-10
⑫ 出 願 人	不二製油株式会社		大阪市南区八幡町6番1
⑬ 代 理 人	弁理士 門 脇	清	

明 細 書

1. 発明の名称 酵素剤の製造法
2. 特許請求の範囲
 - (1) リパーゼ活性を有する水和物質を脂肪酸誘導体の接触下に乾燥することを特徴とする酵素剤の製造法。
 - (2) 脂肪酸誘導体が、脂肪酸、脂肪酸の低級アルコールエステル、界面活性剤、及びトリグリセリドから選択される特許請求の範囲第(1)項記載の製造法。
 - (3) 脂肪酸誘導体が常温で液状である特許請求の範囲第(1)項記載の製造法。
3. 発明の詳細な説明
(産業上の利用分野)

この発明は、酵素剤特に、低水分下にエステル交換する機能に優れた酵素剤の製造法に関するものである。

(従来技術)

リパーゼの基質特異性はエステル交換反応に有利に利用することが出来る。しかし、元来、リパ

ーゼは水と脂質の界面で作用すると考えられており、油脂に対する水の溶解度が約0.2%であることと関連してか、酵素を活性化する少量の水、基質に対して0.2%以上の水の存在下でエステル交換を行うことが多く(例えば特開昭52-104506号)、そのような水分の系では、ジグリセリドの生成量が多いという難点がある。

本出願人は、これより低い水分の領域、極端には工業的に可及的水分を取り去った基質水分の系でも高いエステル交換活性を有する酵素剤の製造法を提案したが(特開昭56-1278087号)、より高いエステル交換活性を賦活できる方法を見出したので、ここに提案するものである。

(発明目的を達成する為の手段)

この発明は、リパーゼ活性を有する水和物質を脂肪酸誘導体と接触下に乾燥することを骨子とする酵素剤の製造法である。

この発明で「リパーゼ活性を有する物質」の「物質」は、酵素又は酵素剤であって(以下「リパーゼ活性を有する物質」を、特に誤解の生じない

場合単に酵素又は酵素剤という)、酵素剤は、沈着法、物理的吸着法、イオン吸着法、包括法、架橋法、共有結合法などによって得る所謂固定化酵素剤は勿論のこと、菌体内酵素や微生物培養物も包含する。酵素剤の担体としては、ケイソウ土、アルミナ、セライト、セルロース及びその他のセルロース誘導体、多孔性ガラス、ガラス繊維、ケイ酸ゲル、フロリジル、イオン交換樹脂、二酸化チタン、カオリナイト、パーライト等が例示され、又酵素剤が他の適当な添加物、例えば、2~3価アルコール、ポリヒドロキシ化合物、蛋白質等を含むことは任意である。

酵素又は酵素剤は界面を形成するに足る量の水の存在下で「リパーゼ活性」即ち脂質分解活性を呈することが必要で、この活性を示さない酵素又は酵素剤はエステル交換活性を賦活乃至増大させることができない。酵素又は酵素剤は、 α 又は α' 位に特異性を有する酵素(例えばリゾプス属、アスペルギルス属、カンディダ属、ムコール属、に属する微生物に由来する酵素、胰臓リパー

ゼ、米糠リパーゼ等)が特に有用であるが、 α 、 α' 位に非特異性である酵素(例えば、ペニシリウム属、ジオトリクム属、コリネバクテリウム属、に属する微生物に由来する酵素)なども使用することができる。

酵素又は酵素剤は水和された状態から乾燥され、少なくとも乾燥初期において、該物質が脂肪酸誘導体と接触されていることが必要である。

水和された状態は、水性媒体例えば、水、緩衝液、アセトン水溶液、アルコール水溶液等が、被水和物の全体にいきわたる状態に置くことをいうが、後の乾燥工程の時間を短くするためには酵素乃至酵素含有物の保水能力を越える(即ち物理的に容易に脱水できる程度の)水性媒体の量は可及的少なくすることが好ましい。

乾燥時に酵素乃至酵素剤と接触させる脂肪酸誘導体としては、脂肪酸、脂肪酸のアルカリ金属塩、ポリカルボン酸、置換カルボン酸、オキシ酸、アミノ酸、アミド、及び脂肪酸エステル(例えば脂肪酸の低級アルコールエステル、脂肪酸の高級ア

ルコールエステル、ソルビタン脂肪酸エステル、レシチン、その他の界面活性剤、及びトリグリセリド)等が例示される。

上記接触状態に置くことにより、エステル交換活性の賦活度が増大する理由は明らかではないが、脂肪酸誘導体が酵素のある部分に何等かの作用をして、乾燥過程における酵素乃至酵素剤の立体的配置をエステル交換に都合のよい状態に保つことに寄与するのではないと思われる。

脂肪酸誘導体の添加時期及び添加方法は、乾燥時に酵素乃至酵素剤と接触状態にあることが必要である他は特に制限はないが、好ましくは、酵素等を水溶液にして担体と混合する時の水溶液中に溶解させたり乳化させたりして用い、或いは酵素水和物に噴霧しながら混合する方法が比較的少量の脂肪酸誘導体の使用量でも均一に分散させるのに有効である。

上記のような分散方法を取るためには、脂肪酸誘導体が水溶性又は常温で液状であるのが一般に望ましい。又、この発明により得る酵素剤の用途

によっては、酵素基質の汚染を避ける目的で適当な脂肪酸誘導体を選択するのが望ましい。本発明者の検討した範囲では、炭素数12以下の飽和脂肪酸若しくは炭素数22以下の不飽和脂肪酸の1価低級アルコールとのエステル例えばエチルラウレートやエチルオレート等が最適であった。

酵素乃至酵素剤(担体を含む固形物全量換算)に対する脂肪酸誘導体の使用量は、通常0.02%以上ないと効果に乏しく、また10%以上になると使用量の増大に伴う効果の増大が少なくなる。

乾燥方法は初期、即ち水和状態からある程度水分が低下するまでの乾燥速度を緩慢にすることが一般に重要である。この乾燥速度は、使用した酵素含有物中の成分や、使用する担体の種類等により異なり一律には定め難いが、次の要領により実験的に容易に定めることができる。即ち、最初数種の乾燥速度で全工程を乾燥して適する乾燥速度を求め、次に、途中で乾燥速度を速くしてもよい時期を求めればよく、勿論作業効率をさほど問題としないで、全工程を緩慢な乾燥速度で乾燥する

ことも可である。初期乾燥速度は、1時間当たりの含水率の低下でいて、一般的には0.5より遅いことが望ましいが、担体の状態に依存するところもあって、保水性の強い場合で、粉状のものは1時間に0.3以下の含水率の低下、粒径2 μ m程度の顆粒状のものは1時間に0.25以下の含水率の低下より速くないことが概してより望ましい。製品酵素剤の品質上最も好ましい緩慢さは一般的にいて0.1の低下より遅い範囲にある。

乾燥手段としては、減圧による乾燥手段の他、相対的に低湿度の気体（空気、窒素その他の不活性気体）と接触させる所謂、通風乾燥、送風乾燥、透気乾燥、熱風乾燥等の手段、相対的に低湿度の流体（蛋白質を変性せず且つ水と一定の相溶性のある、グリセリン、プロピレングリコール、ソルビット等の液体）と接触させる方法、またはこれらの併用が挙げられ、乾燥速度を制御する手段としては、乾燥に用いる流体との飽差を調節（流体中の湿度を調節）したり、乾燥流体又は被乾燥物に与える熱エネルギーを調製する方法等が挙げら

れる。しかし乾燥時に熱供給は、被乾燥物の温度が上昇して酵素が失活するような過剰を避けるべきで、乾燥初期において媒体の温度は通常50℃以下、酵素乃至酵素剤の品温としては通常20℃以下が好ましい。

乾燥の程度は、酵素剤製品を利用する目的により異なるが、一般には水分10%程度以下がよく、特に製品を水分の低い系中で使用する場合には例えば水分5%以下にするなど、より低下させるのが好ましい。ある程度乾燥した酵素剤の脱水は、自体を反応基質例えばグリセリド中に浸漬し、基質の加水分解に水を使用させることによって可能である。

〔実施例〕

以下この発明を実施例で説明する。

実施例1

市販リパーゼ（リゾースステレマー起原）1部を冷水3.5部に分散し、この分散物にカオリナイト2.5部をさらに分散させることにより、リパーゼ及びカオリナイトを水和し、さらに混合しながら、

エチルオレート0.0005～0.5部を噴霧した。これを20℃で減圧乾燥して、水分2.5%の酵素剤を得た。

エチルオレートの部数 (乾燥酵素剤に対する百分率はカッコ内)			エステル交換 活性*
A	0	(0.000 %)	12.4
B	0.0005	(0.014 %)	13.2
C	0.005	(0.14 %)	27.5
D	0.05	(1.4 %)	37.8
E	0.5	(14 %)	36.3

* 特開昭51-35449号に記載のKa値測定法により測定

上記酵素剤A又はDを種々の量用いて、バーム中融点画分とエチルステアレートを1:1に配合した基質（基質水分<0.1%）100部に40℃で作用（系中水分0.08%）させ、エステル交換の反応率約80%まで反応させるのに要した時間（日数）は次のようであった。

酵素剤	使用部数		
	2部	3部	5部
A	8日	5日	3日
D	3日	2日	1日

さらに、系中水分が0.5%になるように水を加えた系で酵素剤の使用部数2部でエステル交換反応させたが、エステル交換反応率約80%に達する時間は酵素剤Aの場合4日であったのに対して、酵素剤Dの場合2日であり、比較的水分の多い系においてもエステル交換活性を賦活することが示された。但し、前記系中水分が0.08%の系でのジグリセリド生成量が5%以下であったのに対して、前記系中水分が0.5%の系でのジグリセリド生成量は約18%であった。

実施例2

市販リパーゼ（リゾース・ニベウス起原）0.5～2.0部及びエチルオレート0.05部を冷水3.0部に分散し、この分散物に珪藻土2.5部をさらに分散させることにより、水和物を得、これをカラムに充填し、湿度50%の空気を通過させることにより、水分1.8%の酵素剤を得た。

得られた酵素剤の酵素使用量（市販リパーゼそのもので担体なしの量）に対応するエステル交換活性（前出Ka値）の値は次表に示した。

酵素使用量		0.5 部	1.25部	2.0 部
Ka 値	ラウレート有	28.3	53.7	79.1
	無	22.5	42.4	54.6

又、エチルラウレートに代えてエチルステアレートを使用したか、酵素溶液中での分散状態を良好にする作業性に劣っていた。

実施例 3

酵素剤調製時にエチルオレート0.05部に代えて、オレイン酸、ソルビタンモノオレート、ラウリン酸ナトリウム、グリセロールモノオレート、トリオレイン及びHLB 約5の蔗糖脂肪酸エステルを使用する他は実施例1と同様にして酵素剤を製造した。これらのエステル交換活性Ka値は、各々32.1、35.3、39.2、33.4、31.6及び33.8であった。

(効果)

以上のように、この発明によって、エステル交換活性の賦活の程度の大きい酵素剤を得ることができ、反応時間の低減乃至は酵素剤の使用量低減の効果がある。